

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 di Laboratorium Perikanan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi sebagai berikut dan dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3. Alat yang digunakan dalam penelitian

| No. | Alat | Kegunaan |
|-----|---|---|
| 1. | <i>Haemocytometer</i> | Untuk menghitung <i>Skeletonema costatum</i> |
| 2. | <i>Hand Counter</i> | Untuk menandai hitungan |
| 3. | Mikroskop Cahaya | Untuk melihat <i>Skeletonema</i> |
| 4. | Refraktometer | Untuk mengukur salinitas |
| 5. | Termometer | Untuk mengukur suhu |
| 6. | Kertas lakmus | Untuk mengukur pH |
| 7. | Pipet Tetes | Untuk mengambil cairan |
| 8. | Gelas Ukur | Untuk menakar cairan |
| 9. | Toples Kaca 3 liter | Untuk tempat kultur <i>Skeletonema costatum</i> |
| 10. | Toples Plastik 22L | Untuk tempat sterilisasi air laut |
| 11. | Toples Plastik 10L | Untuk tempat pengenceran |
| 12. | Aerator (selang aerasi, batu aerasi) | Untuk penyuplai oksigen terlarut |
| 13. | Lampu TL | Untuk pencahayaan kultur |
| 14. | Timbangan Analitik | Untuk menimbang bahan |
| 15. | Kertas Label | Untuk menandai wadah penelitian |

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 4 dibawah ini:

Tabel 4. Bahan yang digunakan dalam penelitian

| No. | Bahan | Kegunaan |
|-----|--|--|
| 1. | <i>Skeletonema Costatum</i> | Organisme yang dibudidayakan |
| 2. | Pupuk campur, silikat, CaSO ₄ , CDR | Untuk pupuk kultur <i>Skeletonema costatum</i> |
| 3. | Air Tawar | Untuk media kultur <i>Skeletonema costatum</i> |
| 4. | Air Laut | Untuk media kultur <i>Skeletonema costatum</i> |
| 5. | Aquades | Untuk sterilisasi alat |
| 6. | Sabun | Untuk mencuci alat |
| 7. | Kaporit | Untuk membunuh bakteri di air |
| 8. | Nathiosulfat | Untuk menetralkan air |
| 9. | Alkohol | Untuk sterilisasi alat |
| 10. | Tisu | Untuk mengeringkan alat |

3.3 Batasan Variabel

1. *Skeletonema costatum* adalah salah satu fitoplankton yang berkadar protein tinggi kurang lebih 50%, memiliki kandungan yang dapat memacu pertumbuhan (growth factor) dan sangat bagus bagi ikan maupun udang, selain hal tersebut fitoplankton ini dapat diproduksi secara masal pada bak terkendali maupun di tambak (Sutikno *dkk.*, 2010).

2. Salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi tekanan osmotik antara protoplasma sel organik dengan lingkungannya. Kadar garam yang berubah-ubah dalam air dapat menimbulkan hambatan untuk mengkultur. *Skeletonema costatum* tumbuh optimal pada salinitas 25-30 ppt (Isnanty dan Kurniastuty 1995).
3. Fase-fase pertumbuhan *Skeletonema costatum*, yaitu fase *lag* (istirahat), fase logaritmik (pertumbuhan eksponensial), fase stasioner (pertumbuhan stabil), dan fase deklinasi (kematian). Berikut adalah fase perkembangan mikroalga menurut (Edhy *et al.*, 2003).

3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen.

Menurut Latipun (2002), penelitian eksperimen ialah penelitian yang dilakukan dengan manipulasi yang bertujuan untuk mengetahui akibat manipulasi terhadap perilaku individu yang diamati.

Tahap-Tahap penelitian adalah:

1. Memasukkan air media sebanyak 3 liter ke dalam media kultur dengan salinitas yang sudah ditentukan, di lengkapi dengan aerator dan lampu TL untuk pencahayaannya.
2. Memasukkan biakan murni *skeletonema costatum* dengan kepadatan 20.000 sel/liter pada setiap media perlakuan.

3. Melakukan pengamatan pertumbuhan populasi *Skeletonema costatum* dibawah mikroskop dan menghitung kepadatan menggunakan haemocytometer. Pengamatan ini dilakukan setiap 18 jam selama 4,5 hari.
4. Melakukan pencatatan data kualitas air yang mempengaruhi pertumbuhan *skeletonema costatum*, antara lain : suhu, salinitas dan pH.

3.5 Perlakuan

Pada penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Untuk menentukan perlakuan pada penelitian ini, peneliti mengacu pada jurnal dari Rudiyantri (2011) yang menggunakan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

Perlakuan 1 : Perlakuan dengan salinitas 15ppt

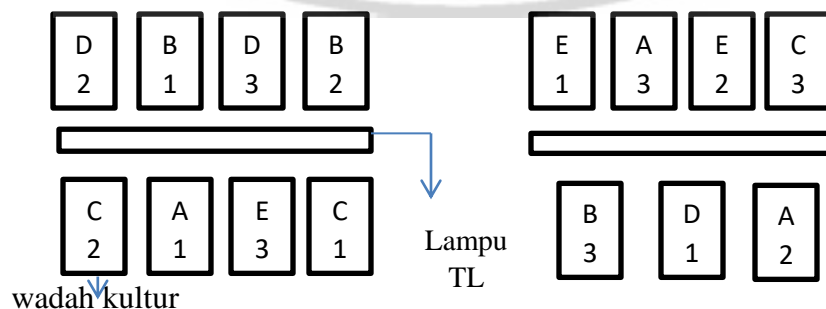
Perlakuan 2 : Perlakuan dengan salinitas 20ppt

Perlakuan 3 : Perlakuan dengan salinitas 25ppt

Perlakuan 4 : Perlakuan dengan salinitas 30ppt

Perlakuan 5 : Perlakuan dengan salinitas 35ppt

3.6 Denah Penelitian



Gambar 3. Denah Penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan Penelitian

A. Sterilisasi Alat

1. Wadah Penelitian

Persiapan wadah penelitian plankton meliputi pencucian, pengeringan dan penyemprotan menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya wadah tersebut diberi tanda untuk mempermudah dalam mengetahui volume air dan juga diberi kode setiap wadah sesuai dengan penempatan masing-masing perlakuan yang telah ditetapkan. Wadah yang telah bersih diletakkan sesuai dengan plot uji coba dan ditutup.

2. Instalasi Aerasi

Persiapan instalasi aerasi meliputi menentukan jumlah selang aerato dan batu aerator, kemudian peralatan dicuci dengan menggunakan detergen dan dijemur hingga kering. Selang aerator dan batu aerator yang sudah kering direndam dalam larutan kaporit selama 10-15 menit. Hal ini bertujuan agar selang dan batu aereasi yang akan digunakan bebas dari protozoa. Kemudian dilakukan pembilasan menggunakan air tawar dan dipasang pada aerator. Setiap wadah penelitian diberi lubang pada tutup toples sebagai saluran selang aerasi. Pada ujung selang aerasi dipasang batu aerasi.

3. Pengisian Air

Setelah wadah ditempatkan dan instalasi pendukung telah terpasang seluruhnya, maka dilakukan pengisian air laut. Air laut yang digunakan adalah

air laut yang telah tersedia di toples penampungan air dan telah dilakukan pengenceran sebelumnya. Pengisian air laut ke dalam wadah penelitian dilakukan dengan menggunakan gelas ukur.

B. Sterilisasi Air Laut dan Air Tawar sebagai Media Kultur

Air laut yang digunakan dalam penelitian berasal dari penyedia komersial dengan salinitas awal sebesar 35 ppt. Sedangkan air tawar berasal dari air sumur bor di Laboratorium Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang. Sterilisasi air laut dan air tawar dilakukan untuk memperkecil jumlah kontaminasi berupa mikroorganisme lain yang terdapat di dalamnya. Air laut dan air tawar yang digunakan di sterilisasi dengan menggunakan klorin 60 ppm yang berfungsi sebagai desinfektan digunakan dalam sterilisasi air laut yang akan digunakan sebagai media kultur dan digunakan natrium thiosulfat 30ppm untuk menetralkan klorin di dalam air (Supriyantini, 2013).

C. Persiapan Bibit

Bibit awal *skeletonema costatum* yang di pakai pada penelitian ini berasal dari BPBAP Situbondo. Setelah itu bibit di aklimatisasi selama 1 hari dengan suhu ruang kultur yang dilengkapi dengan aerator. Isnansetyo dan kurniastuty (1995) menyatakan bahwa memilih bibit dapat dilakukan dengan cara pengamatan secara kasat mata yaitu bibit memiliki ciri-ciri tidak mengendap pada dasar wadah dan berwarna coklat. Pengamatan secara mikroskopis yaitu kepadatan sel tinggi, sel utuh atau tidak patah, ukuran sel besar dan tidak mengandung kontaminan seperti bakteri atau mikroorganisme dan tingkat kepadatan optimal. Kemudian berdasarkan

stock kultur 2 liter tersebut disusun 15 kultur perlakuan *skeletonema costatum* yang akan digunakan dalam penelitian.

D. Pengenceran Air Laut dan Air Tawar

Air laut dan air tawar yang telah disterilkan kemudian dilakukan proses pencampuran untuk membuat salinitas yang diinginkan, menurut Endang Supriyantini (2013) dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan :

V1 = Volume yang diinginkan

V2 = Volume air yang dibutuhkan

N1 = Salinitas awal air

N2 = Salinitas yang diinginkan

Salinitas media disesuaikan dengan perlakuan yang diberikan, yaitu 15 ppt, 20 ppt, 25 ppt, dan 30 ppt, 35 ppt.

E. Pemberian Pupuk

Pertumbuhan kepadatan sel fitoplankton diperkaya dengan kandungan unsur melalui pemberian pupuk. Pupuk tersusun atas berbagai senyawa yang berbeda yang mengandung unsur hara mikro, makro dan vitamin (Ochthrean, 2014). Pupuk yang digunakan dalam kultur *Skeletonema costatum* skala laboratorium adalah pupuk walne. Kultur skala laboratorium menggunakan pupuk berbahan kimia murni (Pro Analisis) dan pupuk teknis walne sebagai medium berbasis pupuk komersial untuk kultur fitoplankton (Kurniati, 2009).

F. Persiapan Air Media Kultur

Media kultur merupakan salah satu faktor yang mendukung pertumbuhan fitoplankton. Media kultur diharapkan dapat digunakan sebagai tempat untuk mengkultur fitoplankton dengan kepadatan yang diinginkan. Isnantyo dan Kurniastuty (1995) menyatakan bahwa *Skeletonema costatum* merupakan fitoplankton yang dapat tumbuh pada media kultur dengan salinitas optimal berkisar 25-30 ppt.

3.7.2 Pelaksanaan Penelitian

A. Parameter yang Diamati

Parameter utama yang diamati dalam penelitian adalah pertumbuhan sel *Skeletonema costatum* (sel/ml) setiap 18jam selama total 4,5 hari kultur. Kemudian Parameter tambahan yang diamati yaitu parameter kualitas air, meliputi suhu (°C), Salinitas (ppt), dan pH.

3.7.3 Pengambilan Data

A. Penghitungan Kepadatan Sel *Skeletonema costatum*.

Kepadatan sel *Skeletonema costatum* dihitung menggunakan Haemocytometer. Adapun tahapan dalam perhitungan adalah sebagai berikut:

1. Haemocytometer yang akan digunakan dibersihkan menggunakan alkohol 70% dan dikeringkan dengan menggunakan tissue, kemudian dipasang gelas penutup.
2. Sampel fitoplankton ditetaskan menggunakan pipet tetes ke dalam haemocytometer hingga tidak ada gelembung udara yang masuk dan diamati

pada mikroskop, kemudian kepadatan sel dihitung dengan bantuan *handcounter*.

3. *Skeletonema costatum* yang terdapat pada kotak bujur sangkar yang memiliki sisi 1 mm dihitung sebanyak 4 kotak dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 kali.
4. Untuk menghitung jumlah sel menggunakan rumus menurut Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara (2015) sebagai berikut:

$$N = \frac{A1+A2+A3+A4}{4} \times 10^4$$

Keterangan :

N = Jumlah sel mikroalga yang terhitung (sel/ml)

A1 – A4 = Jumlah sel mikroalga pada kotak ke-1 sampai 4

4 = Jumlah kotak dalam pengamatan *Skeletonema costatum*

10^4 = Volume kerapatan sel kotak (chamber)

5. Volume inokulum yang dibutuhkan untuk inokulasi dihitung menggunakan rumus menurut Chien (1992) sebagai berikut :

$$V_1 = \frac{V2 \times N2}{N1}$$

Keterangan:

V_1 = Volume inokulum yang digunakan (ml)

N_1 = Kepadatan sel inokulum *Skeletonema costatum* yang terhitung
(sel/ml)

V_2 = Volume media yang akan digunakan (ml)

N_2 = Kepadatan sel inokulum *Skeletonema costatum* yang dibutuhkan
(sel/ml)

B. Pengukuran Parameter Kualitas Air

Pengukuran suhu media kultur dilakukan dengan menggunakan termometer. Salinitas setiap kultur pada masing-masing tahap penelitian diukur menggunakan *hand refractometer*. pH setiap kultur *Skeletonema costatum* diukur dengan menggunakan kertas lakmus. Hasil pengukuran kualitas air yang dicatat setiap kali pengamatan kepadatan sel *Skeletonema costatum*.

3.8 Metode Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dikumpulkan dan ditabulasi dalam bentuk tabel dan grafik. Data kelimpahan sel *Skeletonema costatum* diolah secara statistik menggunakan analisis sidik ragam dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap). Apabila dari hasil analisis sidik ragam diketahui perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (Uji BNT) untuk membandingkan nilai antar perlakuan.